

PENGARUH SUHU DAN LAMA KEJUTAN PANAS TERHADAP TRIPLOIDISASI IKAN LELE SANGKURIANG (*CLARIAS GARIEPINUS*)

ANISA NURASNI

Universitas Padjadjaran

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu dan lama kejutan panas yang dapat menghasilkan ikan triploid lele sangkuriang tertinggi. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial. Faktor pertama adalah suhu kejutan panas yang terdiri atas tiga taraf, yaitu: (1) 39°C, (2) 40°C dan (3) 41°C. Faktor kedua adalah lama kejutan yang terdiri dari 2 taraf, yaitu selama 1 menit dan 2 menit. Waktu awal penerapan kejutan panas yang digunakan adalah 3 menit setelah fertilisasi. Data dianalisis dengan Uji F dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu kejutan panas yang diberikan berpengaruh terhadap derajat perkembangan telur, derajat kelangsungan hidup, pertumbuhan dan induksi ploidisasi, tapi tidak berpengaruh terhadap derajat tetas telur dan abnormalitas. Lama kejutan yang diberikan tidak berpengaruh terhadap parameter yang diuji. Ikan triploid diuji dengan mengukur diameter sel darah merah dan menghitung jumlah kromosomnya. Dari pengamatan didapatkan bahwa pada ikan triploid terdapat sel darah merah dengan diameter yang lebih besar dibandingkan dengan diploidnya, selain itu jumlah kromosom ikan triploid adalah 84 dan pada ikan diploid adalah 56. Jumlah ikan triploid terbanyak didapatkan pada perlakuan suhu kejutan 40°C selama 2 menit yaitu sebesar 63,33%.

Kata Kunci : suhu kejutan, lama kejutan panas, triploidisasi, ikan lele sangkuriang

Abstract

This study aimed to determine the effect of temperature and duration of heat shock can produce triploid Sangkuriang catfish highest. The method employed a Completely Randomized Design (CRD) with factorial pattern. The first factor was temperature of the heat shock consisting three levels of temperatures, namely: (1) 39°C, (2) 40°C and (3) 41°C. The second factor is the duration of heat shock consisting two levels, namely for 1 minute and 2 minutes. Initial application of heat shock used is 3 minutes after fertilization. Data analyzed using F test and Duncan test. The results showed that the temperature of the heat shock gave significant effect on fertilization rate, survival rate, growth and ploidization induction, but no effect on hatching rate and abnormalities. Duration of heat shock gave no significant effect on the parameters tested. Triploid fish were tested by measuring the diameter of red blood cells and count the number of chromosomes. From the observation it was found that triploid fish have red blood cells with a larger diameter than diploid, and chromosome number of triploid fish was 84 and the diploid fish 56. The number of triploid fish found at a temperature shock treatment of 40°C during 2 minute was equal to 63.33%.

Keywords : temperature shock, duration of heat shock, triploidization, Sangkuriang catfish

Pendahuluan

Ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang sudah dibudidayakan secara komersial oleh masyarakat Indonesia terutama di Pulau Jawa. Pengembangan usaha budidaya ikan ini semakin meningkat setelah masuknya jenis ikan lele dumbo ke Indonesia pada tahun 1985. Naiknya permintaan terhadap benih yang bermutu baik kuantitas maupun kualitas dan harus tersedia setiap saat mengakibatkan meningkatnya kegiatan usaha pembudidayaan ikan lele. Salah satu kegiatan usaha pembudidayaan untuk memenuhi permintaan tersebut adalah dengan cara penerapan teknologi pemijahan buatan yang memanfaatkan prinsip-prinsip bioteknologi.

Salah satu prinsip bioteknologi untuk meningkatkan produksi benih baik kualitas maupun kuantitasnya adalah rekayasa genetik. Dalam perkembangannya rekayasa genetik dapat dilakukan dengan poliploidisasi. Poliploidisasi merupakan salah satu metode manipulasi kromosom yang bertujuan untuk meningkatkan dan memperbaiki kualitas ikan agar menghasilkan benih-benih ikan yang mempunyai keunggulan, antara lain: pertumbuhan cepat, toleransi terhadap lingkungan dan resisten terhadap penyakit (Carman et al., 1992).

Thorgaard (1983) menjelaskan, pendekatan praktis untuk induksi poliploid melalui dua pelakuan, yaitu

perlakuan fisik dan kimia, tetapi ada juga perlakuan lain yaitu menggunakan kejutan listrik (elektro) dan kejutan tekanan. Paling umum digunakan untuk menghasilkan ikan poliploid yaitu kejutan suhu panas karena murah, mudah, efisien dan dapat dilakukan dalam jumlah banyak (Don dan Avtalion, 1988).

Salah satu proses poliploidisasi adalah triploidisasi dengan terbentuknya individu yang memiliki kromosom tiga set yang steril. Triploidisasi telah dilakukan dan digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan ikan. Pembentukan ikan triploid dilakukan dengan memberi kejutan panas pada telur yang dibuahi secara normal pada saat tingkat meiosis II. Pemberian kejutan tersebut diharapkan dapat mencegah terlepasnya *polar-body II* sehingga terbentuk keadaan triploid (Hariani, 2008). Salah satu yang penting dari jenis ikan triploid adalah termasuk jenis ikan yang "steril" karena memiliki sejumlah perangkat kromosom yang berbeda. Hal ini dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan produksi karena energi metabolisme yang biasanya digunakan untuk perkembangan gonad dimanfaatkan untuk pertumbuhan (Beaumont, 1994).

Thorgaard (1983) menyatakan bahwa waktu awal kejutan, lama waktu kejutan dan suhu yang digunakan untuk tiap spesies ikan berbeda. Ketiga faktor tersebut

sangat mempengaruhi keberhasilan pembentukan triploid. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh suhu dan lama kejutan panas yang dapat menghasilkan ikan triploid lele sangkuriang tertinggi.

Metode

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juni 2011 sampai dengan bulan September 2011 di Loka Riset Perikanan Air Tawar Sukamandi Kabupaten Subang, Jawa Barat. Objek penelitian ini adalah telur ikan yang diperoleh dari pemijahan induk ikan lele sangkuriang yang berasal dari Loka Riset Air Tawar Sukamandi dengan cara melakukan silang balik induk lele dumbo betina F2 dengan induk lele dumbo jantan F6 secara buatan dengan menggunakan ovaprim dan metode ini sesuai dengan yang dilakukan oleh BBP BAT Sukabumi; larva lele sangkuriang berumur 30 hari dan ikan lele sangkuriang berumur 90 hari.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah model eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial yang terdiri atas dua faktor dan kombinasi lengkap semua taraf, kedua faktor diulang 3 kali. Faktor pertama adalah suhu kejutan panas yang terdiri atas tiga taraf, yaitu: (1) 39°C, (2) 40°C dan (3) 41°C. Faktor kedua adalah lama kejutan yang terdiri atas 2 taraf, yaitu selama 1 menit dan 2 menit. Waktu awal penerapan kejutan panas yang digunakan adalah 3 menit setelah fertilisasi yang merupakan waktu awal terbaik dari hasil penelitian Mukti (2005). Selain itu, perlakuan di atas dibandingkan dengan fertilisasi ovum dan sperma ikan lele sangkuriang tanpa kejutan suhu (kontrol) dan dianalisis menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Parameter Yang Diamati

1. Derajat Perkembangan Telur (DPT)

$$DPT = \frac{\text{Jumlah Telur Yang Dibuahi}}{\text{Jumlah Telur Awal}} 100 \%$$

2. Derajat Tetas Telur (DT)

$$DT = \frac{\text{Jumlah Larva}}{\text{Jumlah Telur Berkembang}} 100 \%$$

3. Derajat Kelangsungan Hidup (KH) (Effendi, 1978)

$$KH = \frac{\text{Jumlah Ikan Hari Ke-90}}{\text{Jumlah Larva Awal Pemeliharaan}} 100 \%$$

4. Abnormalitas

Keabnormalitasan (cacat) larva ikan dapat diamati dari bentuk kepala, tubuh dan atau ekor yang bengkok, tubuh menyusut atau lebih pendek dari ukuran normal maupun pembesaran kelopak mata dan kepala serta tingkah laku ikan (Mukti, 2005).

5. Derajat Pertumbuhan

Pertambahan bobot dan panjang ikan menurut Zonneveld et al., (1991) dihitung dengan rumus:

$$G = W_t - W_o$$

$$L = L_t - L_o$$

Keterangan:

G = Pertambahan bobot (g)

W_t = Bobot rata-rata ikan pada akhir penelitian (g)

W_o = Bobot rata-rata ikan pada awal penelitian (g)

L = Pertambahan panjang (cm)

L_t = Panjang rata-rata ikan pada akhir penelitian (cm)

L_o = Panjang rata-rata ikan pada awal penelitian (cm)

6. Induksi Ploidisasi (IP)

Induksi ploidisasi dalam penelitian ini ditentukan dengan ukuran sel darah merah ikan dan jumlah kromosom ikan. Induksi triploid ditentukan dengan analisis jumlah kromosom yang berasal dari 10 individu secara acak (*random*) per perlakuan (Sastrawibawa, 1997). Induksi ploidisasi dihitung sebagai berikut:

$$IP = \frac{\text{Jumlah Ikan Triploid}}{\text{Jumlah Ikan Sampel}} 100 \%$$

Pemijahan dan Stripping Induk Ikan Lele Sangkuriang

Pemijahan menggunakan induk betina dan jantan dengan berat masing-masing adalah 0,70-1 kg dan 0,50-0,75 kg dengan perbandingan 1 : 1 dimasukkan ke bak pemijahan. Pemijahan dilakukan secara buatan dengan menggunakan hormon ovaprim. Induk betina disuntik larutan ovaprim 0,2 ml/kg dan induk jantan 0,1 ml/kg, suntikan ini gunanya untuk mempercepat kematangan gonad.

Telur didapatkan dengan melakukan stripping terhadap induk betina 8 jam setelah penyuntikan. Sperma ikan lele diperoleh dengan melakukan pembedahan untuk mengambil testisnya 8 jam setelah penyuntikan. Testis dipotong-potong sehingga sperma keluar dari kantong sperma. Sperma ditambah larutan fisiologis untuk mengencerkan sperma. Pembuahan buatan dilakukan dengan cara mencampurkan telur dan sperma dengan diaduk menggunakan bulu ayam sambil ditambah dengan larutan pembuahan.

Perlakuan Triploidisasi

Tahapan perlakuan triploidisasi pada penelitian ini adalah setelah mendapatkan sel telur dan sperma, keduanya direndam terlebih dahulu dengan menggunakan larutan fisiologis. Sperma dan ovum dicampur dalam mangkuk dan dikocok pelan menggunakan bulu ayam, kemudian setelah 3 menit telur tersebut dibagi dalam 20 serok dengan menggunakan sendok takaran yaitu untuk 6 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 kontrol. Serok ini berfungsi untuk memudahkan dalam pemindahan telur

Serok yang berisi telur (2 buah) untuk kontrol langsung dimasukkan ke dalam toples pemeliharaan yang telah diberi aerasi. Siapkan *water bath* yang mempunyai suhu 39°C, 40°C dan 41°C. Keenam perlakuan tersebut dimulai setelah 3 menit dari awal fertilisasi (pembuahan).

Telur dalam 6 serok pertama dimasukkan ke dalam *water bath* dengan suhu 39°C, 3 serok pertama diberikan lama kejutan sesuai perlakuan yakni 1 menit (perlakuan 1), kemudian 3 serok berikutnya diberikan lama kejutan sesuai perlakuan yakni 2 menit

(perlakuan 2). Selanjutnya dipindahkan ke dalam 6 toples pemeliharaan yang telah diberi aerasi. Telur dalam 6 serok berikutnya, dimasukkan ke dalam water bath dengan suhu 40°C, 3 serok pertama diberikan lama kejutan sesuai perlakuan yakni 1 menit (perlakuan 3), kemudian 3 serok berikutnya diberikan lama kejutan sesuai perlakuan yakni 2 menit (perlakuan 4). Selanjutnya dipindahkan ke dalam 6 toples pemeliharaan yang telah diberi aerasi. Telur dalam 6 serok terakhir, dimasukkan ke dalam water bath dengan suhu 41°C, 3 serok pertama diberikan lama kejutan sesuai perlakuan yakni 1 menit (perlakuan 5), kemudian 3 serok berikutnya diberikan lama kejutan sesuai perlakuan yakni 2 menit (perlakuan 6). Selanjutnya dipindahkan ke dalam 6 toples pemeliharaan yang telah diberi aerasi. Obyek telur dipelihara hingga menjadi ikan selama 90 hari dan siap diamati tingkat keberhasilannya. Pada saat larva berumur 12 hari dipindahkan ke akuarium yang telah diberi aerasi. Penghitungan derajat perkembangan telur dilakukan dalam waktu 10-12 jam setelah pembuahan. Penghitungan derajat tetas telur dilakukan dalam waktu 2-3 hari setelah pembuahan.

Penetasan Telur dan Pemeliharaan Larva

Penetasan dilakukan dalam toples pemeliharaan yang diisi air 5 liter dan pemeliharaan larva dilakukan ke dalam akuarium 40 cm x 60 cm x 40 cm yang diisi air 48 L. Setelah kantung kuning telur habis terserap, larva berumur 4 hari diberi makan *Artemia* yang telah disaring dengan frekuensi tiga kali sehari sampai larva berumur 12 hari. Pada saat larva berumur 13 hari, diberi pakan buatan pada sore hari dan diberi pakan cacing tubifex pada pagi hari sampai larva berumur 30 hari. Pada saat ikan umur 31 hari sampai 90 hari, diberi pakan buatan. Pemberian pakan diberikan secara ad libitum.

Penghitungan derajat kelangsungan hidup dilakukan setiap 3 hari selama pemeliharaan larva. Derajat pertumbuhan diukur awal pemeliharaan dan pada akhir pemeliharaan. Abnormalitas dilihat pada larva 30. Penghitungan jumlah kromosom dan pengukuran sel darah merah dilakukan pada akhir penelitian (ikan 90 hari).

Analisis Ploidisasi (Ukuran Sel Darah Merah dan Jumlah Kromosom)

- **Ukuran Sel Darah Merah** (Carman, 1990 dalam Sastrawibawa, 1997).

Analisis ploidisasi dilakukan dengan mengukur ukuran sel darah merah dengan pewarnaan giemsa menggunakan ikan berumur 3 bulan (ikan 90 hari) melalui tahapan sebagai berikut : *object glass* yang tepinya rata diambil untuk digunakan sebagai kaca pemulas (*spreader*), kemudian ambil *object glass* lainnya yang bersih. Darah diambil dari pemotongan ekor ikan. Darah ditetaskan kira-kira 1 cm pada *object glass*. Peganglah sisi kiri *object glass* dengan ibu jari dan telunjuk tangan kiri, kemudian kaca pemulas dipegang dengan tangan kanan dan letakkan didepan tetesan darah dengan membentuk sudut kira-kira 45°C membuka ke kanan.

Kaca pemulas digeser ke arah kanan sehingga setelah menyinggung tetesan darah, darah tersebut akan menyebar sepanjang sisi bawah kaca pemulas. Kaca pemulas didorong dengan cepat sepanjang *object glass*. Sediaan dibiarkan kering udara, setelah kering sediaan direndam dalam alkohol 95% selama 5 menit. Sediaan diwarnai dengan pewarna giemsa 10 % selama 15-20 menit dengan cara direndam. Bilas preparat tersebut dengan akuades dan dibiarkan kering. Slide diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali, kemudian dibuat fotonya. Perlu diketahui bahwa ukuran sel darah ikan triploid lebih besar dari ukuran sel darah ikan normal (diploid). Data hasil digunakan untuk menentukan induksi ploidisasi.

- **Jumlah Kromosom** (Mukti, 1999).

Ikan yang berumur 3 bulan (ikan 90 hari) direndam dalam 500 ml lautan kolkhisin 0,007 % selama 10 jam. Selama perendaman ikan dibiarkan berenang dalam wadah dengan aerasi yang baik. Ikan tersebut dibunuh, kemudian diambil jaringan tubuhnya pada bagian hati dan sirip ekor. Potongan jaringan tersebut di rendam dalam larutan KCl 0,075 M pada botol film selama 60 menit pada suhu ruang. Larutan KCl diganti setiap 30 menit selama waktu perendaman dengan volume 20 kali volume jaringan dan setiap 15 menit digoyang-goyangkan.

Jaringan difiksasi dengan larutan Carnoy selama 60 menit, dan dilakukan penggantian larutan setiap 30 menit dan dilanjutkan dengan pembuatan preparat. Jaringan yang telah difiksasi diambil dengan menggunakan pinset dan disentuhkan pada kertas tissue untuk menghilangkan larutan fiksatif. Jaringan tersebut diletakkan di atas gelas objek cekung dan ditambahkan 3-4 tetes asam asetat 50 %. Jaringan tersebut digerak-gerakkan dengan menggunakan pinset secara hati-hati hingga keruh yang berarti telah terbentuk suspensi sel.

Suspensi yang terbentuk diambil dengan pipet tetes, lalu ditetaskan di atas gelas objek yang ditempatkan di atas hot plate dengan suhu 45-50°C, dan dihisap kembali dengan cepat setelah terbentuk lingkaran dengan diameter 1-1,5 cm. Langkah selanjutnya adalah pewarnaan preparat. Pada setiap gelas objek sebaiknya dibuat 3 lingkaran. Preparat yang telah jadi diwarnai dengan larutan giemsa 10 % selama 15-20 menit dengan cara direndam. Bilas preparat tersebut dengan akuades dan dibiarkan kering, kemudian bisa diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali, kemudian dibuat fotonya. Data hasil digunakan untuk menentukan induksi ploidisasi.

Analisis Data

Data hasil pengamatan derajat perkembangan telur, derajat tetas telur, derajat kelangsungan hidup, abnormalitas, pertumbuhan dan induksi ploidisasi ikan lele sangkuriang dianalisis dengan :

- a. Deskriptif komparatif menggunakan diagram batang atau histogram
- b. Uji F dengan tingkat kesalahan 5% untuk membandingkan data masing-masing parameter pada setiap perlakuan dan kontrol, kemudian hasil yang signifikan dilanjutkan dengan Uji Duncan.

Hasil Dan Pembahasan

Derajat Perkembangan Telur

Tabel 1. Nilai Rataan Derajat Perkembangan Telur (%)

L \ T	39°C	40°C	41°C
1 menit	68,931(AB) (a)	73,654(B) (a)	50,364(A) (a)
2 menit	59,825(AB) (a)	78,985(B) (a)	55,113(A) (a)
Kontrol	79,310		

Keterangan: Nilai dengan huruf besar yang sama (arah baris) dan huruf kecil yang sama (arah kolom) menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

T = Suhu kejutan L = Lama Kejutan

Berdasarkan Tabel 1, terlihat bahwa perlakuan suhu kejutan 39°C terhadap derajat perkembangan telur tidak berbeda, sedangkan perlakuan suhu kejutan 40°C dan 41°C berbeda. Perlakuan lama kejutan tidak mempengaruhi derajat perkembangan telur. Dibandingkan kontrol, hampir semua perlakuan sama dengan kontrol kecuali dengan perlakuan 41°C dengan lama kejutan 1 dan 2 menit lebih rendah. Hal ini disebabkan oleh perlakuan yang diberikan cenderung menurunkan persentase derajat perkembangan telur. Lagler et al. (1977) menyatakan bahwa telur pada periode awal perkembangannya sangat sensitif terhadap goncangan, kejutan dan perubahan suhu mendadak yang menyebabkan zigot menjadi sangat lemah dan dapat mengakibatkan berhentinya proses perkembangan pembentukan stadia berikutnya sehingga menyebabkan kematian telur.

Menurut Purdom (1993) pendedahan telur dengan suhu tinggi dapat merusak protein-protein sitoplasma sehingga berpengaruh terhadap perkembangan telur. Suzuki et al. (1985) dalam Sastrawibawa (1997) mengemukakan bahwa rendahnya derajat perkembangan telur akibat kejutan panas tersebut selain karena tidak meratanya telur yang sedang mengembang saat diberi kejutan, juga diduga karena adanya kejutan ganda, yaitu kejutan yang disebabkan oleh diinkubasinya telur secara langsung setelah diberi kejutan panas (39°C-41°C) ke dalam akuarium yang berada di hatchery dengan suhu sekitar 26°C-27°C

Effendie (1997) menyatakan bahwa derajat perkembangan telur yang mencapai nilai di atas 70% dikategorikan tinggi, hasil pengamatan derajat perkembangan telur pada perlakuan yang dikategorikan tinggi adalah suhu kejutan 40°C selama 1 dan 2 menit yaitu 73,654% dan 78,985%. Hasil pengamatan juga memberikan perbedaan antara telur ikan lele sangkuriang yang terbuahi dengan telur tidak terbuahi. Telur yang terbuahi tampak jernih transparan dan warna yolk yang tajam, sedangkan telur yang tidak terbuahi tampak keruh keputihan dan warna yolk memudar.

Larger et al. (1977) menyatakan bahwa telur yang terbuahi oleh sperma akan tampak transparan (jernih), sedangkan telur yang tidak terbuahi oleh sperma nampak keruh. Telur yang tidak terbuahi segera kehilangan transparansinya dan menjadi keputih-

putihan karena yolk merembes ke dalam ruang previtellin dan akhirnya telur tersebut akan mati.

Derajat Tetas Telur

Tabel 2. Nilai Rataan Derajat Tetas Telur (%)

L \ T	39°C	40°C	41°C
1 menit	55,227(A) (a)	61,538(A) (a)	65,642(A) (a)
2 menit	70,910(A) (a)	64,401(A) (a)	63,283(A) (a)
Kontrol	88,136		

Keterangan: Nilai dengan huruf besar yang sama (arah baris) dan huruf kecil yang sama (arah kolom) menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

T = Suhu kejutan L = Lama Kejutan

Berdasarkan Tabel 2, terlihat bahwa semua perlakuan terhadap daya tetas telur tidak berbeda. Dibandingkan dengan kontrol juga tidak berbeda nyata, tetapi perlakuan cenderung menurunkan nilai rata-rata derajat tetas telur. Penurunan daya tetas ini disebabkan oleh perlakuan kejutan panas mempengaruhi penurunan aktivitas enzim, karena suhu yang tinggi akan mendenaturasi enzim atau menyebabkan kerusakan protein-protein sitoplasma telur. Enzim tersebut dinamakan *chorionase* yang terdiri dari *pseudokeratine* yang kerjanya bersifat mereduksi chorion menjadi lunak (Richter dan Rustidja, 1985). Faktor lainnya yang menyebabkan penurunan derajat penetasan telur adalah frekuensi pemijahan dari induk yang terlalu sering, sehingga mempunyai pengaruh terhadap kualitas telur (Hariani, 2008). Lama kejutan yang diberikan tidak berbeda, hal ini disebabkan oleh sampai lama kejutan 2 menit, air dalam rongga perivitelline masih mampu menyangga suhu air panas yang mulai masuk ke dalam telur melalui osmosis, sehingga sebagian telur masih bertahan hidup (Sastrawibawa, 1997).

Derajat tetas telur dipengaruhi oleh dua faktor yaitu faktor internal dan eksternal. Faktor internal antara lain kualitas telur dan kualitas sperma yang membuahi karena embrio (telur) berkembang dari zigot yang merupakan hasil pertemuan gamet betina dan gamet jantan (Effendie, 1997). Faktor eksternal antara lain suhu, oksigen dan kondisi tempat telur diinkubasi (Soeseno, 1983).

Derajat Kelangsungan Hidup

Tabel 3. Nilai Rataan Derajat Kelangsungan Hidup (%) Ikan Lele Sangkuriang

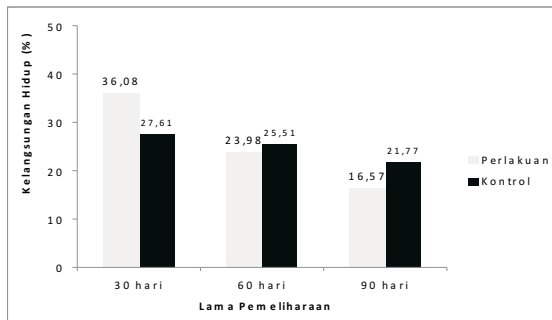
L \ T	39°C	40°C	41°C
1 menit	19,657(B) (a)	19,620(B) (a)	12,902(A) (a)
2 menit	15,688(B) (a)	18,712(B) (a)	12,857(A) (a)
Kontrol	21,770		

Keterangan: Nilai dengan huruf besar yang sama (arah baris) dan huruf kecil yang sama (arah kolom) menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

T = Suhu kejutan L = Lama Kejutan

Berdasarkan Tabel 3, terlihat bahwa perlakuan suhu kejutan 41°C berbeda dengan suhu kejutan 39°C dan 40°C, tetapi suhu kejutan 39°C sama dengan suhu kejutan 40°C. Perlakuan pemberian lama kejutan tidak mempengaruhi derajat kelangsungan hidup. Dibandingkan dengan kontrol, kelangsungan hidup ikan 90 hari tidak berbeda.

Gambar 1. Derajat kelangsungan hidup ikan lele sangkuriang pada perlakuan dan kontrol selama pemeliharaan



Pada Gambar 1, terlihat bahwa derajat kelangsungan hidup perlakuan pada hari ke-30 masih tergolong sedang karena lebih dari 30%, sedangkan pada kontrol tergolong jelek karena dibawah 30%. Pada hari ke-60 dan 90, perlakuan dan kontrol tergolong jelek. Hal ini mengacu pada Effendie (1997) menyatakan bahwa kemampuan bertahan hidup diatas 50% digolongkan baik, antara 30-50% digolongkan sedang dan dibawah 30% termasuk jelek.

Pada penelitian ini terjadi penurunan kelangsungan hidup. Penurunan kelangsungan hidup ini, diduga akibat rendahnya kemampuan ikan perlakuan dalam menangkap oksigen terlarut dalam air. Menurut Rustidja (1991) kemampuan pengikatan oksigen terlarut ikan triploid lebih rendah dibandingkan dengan ikan diploid (normal).

Ikan-ikan poliploid seperti triploid dan tetraploid memiliki ukuran sel yang besar dan jumlah sel yang jauh lebih banyak bila dibandingkan dengan ikan diploid, dikarenakan pembelahan sel yang terjadi di dalam tubuh ikan poliploid sangat tinggi dan hal ini diduga menyebabkan proses metabolisme di dalam tubuh ikan juga akan berjalan lebih cepat, sehingga sangat diperlukan jumlah atau kadar oksigen terlarut yang cukup besar. Apabila kemampuan pengikatan oksigen terlarut ikan terlalu rendah, maka jumlah atau kadar oksigen yang diserap jauh tidak seimbang dengan jumlah atau kadar oksigen terlarut yang dibutuhkan untuk melancarkan proses metabolisme tubuhnya. Adanya persaingan antar individu untuk mengkonsumsi oksigen terlarut dalam air media pemeliharaan dapat menyebabkan terbatasnya ketersediaan oksigen terlarut. Akibatnya, kemampuan ikan-ikan poliploid (triploid dan tetraploid) untuk bertahan hidup sangat rendah (Mukti et al., 2001).

Abnormalitas

Tabel 4. Nilai Rataan Abnormalitas (%) Ikan Lele Sangkuriang

L \ T	39°C	40°C	41°C
1 menit	2,98(A) (a)	2,24(A) (a)	6,71(A) (a)
2 menit	7,31(A) (a)	0,88(A) (a)	7,29(A) (a)
Kontrol	0		

Keterangan : Nilai dengan huruf besar yang sama (arah baris) dan huruf kecil yang sama (arah kolom) menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

T = Suhu kejutan

L = Lama Kejutan

Berdasarkan Tabel 4, terlihat bahwa semua perlakuan terhadap abnormalitas tidak berbeda. Dibandingkan dengan kontrol pada abnormalitas juga tidak berbeda nyata. Hal ini diduga suhu dan lama kejutan tidak memberikan pengaruh yang besar terhadap keabnormalitasan ikan yang diberi perlakuan. Abnormalitas yang terjadi pada penelitian ini, diduga pada saat pemberian kejutan suhu panas ada sebagian telur yang belum bisa mengembalikan jumlah kromosom yang berkurang pada saat proses perkembangan telur yang diinginkan, yaitu menghasilkan zigot diploid (2n) dan telah mengalami modifikasi kromosom, sehingga sebagian telur yang menetas pada tiap perlakuan ada yang menghasilkan larva abnormal (Hasanuddin (1995) dalam Pudjirahaju et al. (2006).

Suhu terlalu tinggi dapat mengganggu aktivitas enzim penetasan pada telur dan mengakibatkan pengerasan pada *chorion*, sehingga menghambat proses penetasan telur dan dapat mengakibatkan terjadinya keabnormalitasan (cacat) pada larva ikan yang dihasilkan (Mukti, 2005). Biedwell et al. (1985) dalam Mukti (2005) menyatakan bahwa larva ikan yang cacat dapat disebabkan oleh lapisan terluar dari telur (*chorion*) yang mengalami pengerasan, sehingga embrio akan sulit untuk keluar. Setelah *chorion* dapat dipecahkan, maka embrio akan keluar dalam keadaan tubuh cacat. Pada penelitian ini ditemukan beberapa ikan yang abnormalitas, contohnya ikan yang sirip punggungnya tidak sempurna, ikan dengan sirip ekor berbentuk cabang, ikan dengan tubuh berlekuk dan bentuk kepala yang kurang simetris.

Pertumbuhan

Tabel 5. Nilai Rataan Pertambahan Bobot (gr) Ikan Lele Sangkuriang

L \ T	39°C	40°C	41°C
1 menit	21,865(B) (a)	23,498(C) (a)	17,471(A) (a)
2 menit	20,865(B) (a)	28,605(C) (a)	17,125(A) (a)
Kontrol	15,818		

Keterangan: Nilai dengan huruf besar yang sama (arah baris) dan huruf kecil yang sama (arah kolom) menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

T = Suhu kejutan

L = Lama Kejutan

Tabel 6. Nilai Rataan Pertambahan Panjang (cm) Ikan Lele Sangkuriang

L \ T	39°C	40°C	41°C
1 menit	13,673(B) (a)	14,020(B) (a)	12,527(A) (a)
2 menit	13,183(B) (a)	14,047(B) (a)	12,037(A) (a)
Kontrol	12,245		

Keterangan : Nilai dengan huruf besar yang sama (arah baris) dan huruf kecil yang sama (arah kolom) menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

T = Suhu kejutan

L = Lama Kejutan

Poliploidisasi pada ikan berhubungan dengan ciri-ciri ukuran tubuh yang besar, laju pertumbuhan cepat, lama hidup dan adaptasi ekologi (Hecht and Appelbaum, 1987). Berdasarkan Tabel 5, setiap perlakuan suhu kejutan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pertambahan bobot. Pada pertambahan panjang, suhu kejutan 41°C berbeda dengan suhu kejutan 39°C dan 40°C, tetapi suhu kejutan 39°C sama dengan suhu kejutan 40°C (Tabel 6). Perlakuan pemberian lama kejutan tidak mempengaruhi derajat kelangsungan hidup. Perbandingan perlakuan dengan kontrol, perlakuan 40°C selama 1 dan 2 menit memiliki perbedaan dengan kontrol pada derajat pertumbuhan. Hal ini diduga karena ikan yang diberi perlakuan (triploid) memiliki ukuran dan isi nukleus serta sel jauh lebih besar bila dibandingkan dengan ikan kontrol (diploid). Triploid mempunyai ukuran nukleus dan sel yang lebih besar dibandingkan diploid, sehingga laju per-tumbuhannya lebih tinggi (Fankhauser, 1945 dalam Gold, 1979; Tave, 1993).

Pertumbuhan ini juga berhubungan dengan besarnya sel darah merah, ikan triploid memiliki sel darah merah lebih besar dibandingkan dengan ikan diploid. Fungsi dari sel darah merah adalah mengikat oksigen oleh hemoglobin (Hb). Hb berfungsi mengikat oksigen yang kemudian akan digunakan untuk proses katabolisme sehingga dihasilkan energi. Kemampuan mengikat oksigen dalam darah tergantung pada jumlah Hb yang terdapat dalam sel darah merah. Tingginya kadar Hb menyebabkan laju metabolisme meningkat dan energi yang dihasilkan menjadi tinggi. Hal ini membuat ikan menjadi tumbuh lebih cepat dan memiliki nafsu makan tinggi (Alamanda et al., 2007).

Selama pemeliharaan 90 hari baik pertambahan

bobot maupun panjang pada perlakuan 40°C lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (Gambar 2). Hal ini disebabkan oleh individu triploid merupakan individu yang steril dan mempunyai laju pertumbuhan yang lebih baik bila dibandingkan dengan spesies diploid. Individu triploid mempunyai kemampuan didalam pembelahan sel yang jauh lebih tinggi bila dibandingkan dengan ikan normal diploid, sehingga ikan triploid akan mempunyai jumlah sel yang lebih banyak jika dibandingkan dengan ikan normal (Suryo, 1990).

Pertumbuhan ikan dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal merupakan faktor-faktor yang berhubungan dengan ikan itu sendiri seperti umur, dan sifat genetik ikan yang meliputi keturunan, kemampuan untuk memanfaatkan makanan dan ketahanan terhadap penyakit. Faktor eksternal merupakan faktor yang berkaitan dengan lingkungan tempat hidup ikan yang meliputi sifat fisika dan kimia air, ruang gerak dan ketersediaan makanan dari segi kualitas dan kuantitas (Sukarti et al., 2006).

Induksi Ploidisasi

Tabel 6. Nilai Rataan Induksi Ploidisasi (%) Ikan Lele Sangkuriang

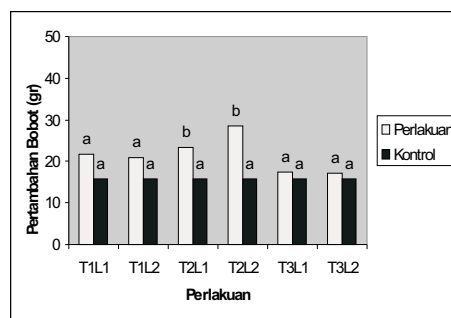
L \ T	39°C	40°C	41°C
1 menit	33,33(B) (a)	46,67(C) (a)	16,67(A) (a)
2 menit	23,33(B) (a)	63,33(C) (a)	16,67(A) (a)
Kontrol			

Keterangan : Nilai dengan huruf besar yang sama (arah baris) dan huruf kecil yang sama (arah kolom) menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

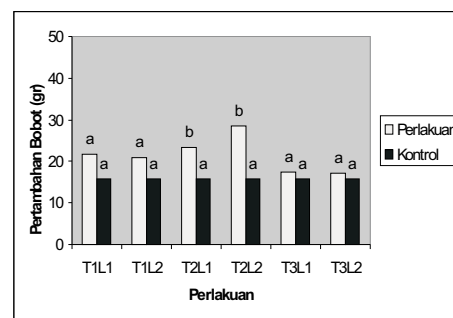
T = Suhu kejutan

L = Lama Kejutan

Gambar 2. Pertambahan bobot (A) dan pertambahan panjang (B) ikan lele sangkuriang pada perlakuan dan kontrol selama pemeliharaan



A



B

Berdasarkan Tabel 6, terlihat bahwa suhu kejutan memberikan pengaruh berbeda terhadap induksi ploidisasi setiap perlakuan, tetapi lama kejutan tidak memberikan pengaruh terhadap induksi ploidisasi. Induksi ploidisasi yang dihasilkan dari yg tertinggi sampai yang terendah adalah suhu 40°C, 39°C dan 41°C. Hal ini disebabkan karena suhu 40°C termasuk suhu sublethal (suhu tertinggi yang dapat ditolerir oleh ikan dan tidak mematikan) sehingga dapat mencegah keluarnya polar body II. Pada perlakuan suhu 39°C belum sepenuhnya mencegah polar body II keluar, sedangkan pada suhu 41°C merupakan suhu lethal bagi telur ikan lele, sehingga ikan triploid yang dihasilkan rendah (Thorgaard, 1983).

Perlakuan lama kejutan panas yang diberikan pada penelitian ini tidak berbeda, hal ini dikarenakan suhu kejutan 1-2 menit masih dalam kisaran proses meiosis II yang terjadi sekitar 3-7 menit setelah pembuahan, sehingga masih terjadi proses pelepasan polar body II. Hal ini sesuai dengan penjelasan Carman et al. (1992) yang menyatakan bahwa peloncatan polar body II terjadi 3-7 menit setelah pembuahan pada beberapa beberapa spesies. Hussain et al. (1991) dalam Sastrawibawa (1997) selanjutnya menyatakan bahwa aplikasi kejutan pada saat yang terlalu dini (kurang dari 5 menit setelah pembuahan) pada umumnya menurunkan kelangsungan hidup dan persentasi triploid yang pada gilirannya menurunkan hasil triploid. Persentasi triploid juga menurun tajam dengan aplikasi kejutan pada saat 6 dan 7 menit setelah pembuahan.

Pada penelitian presentasi ikan triploid tidak mencapai 100%, hal ini sesuai dengan pernyataan Thorgaard (1983) dalam Sukarti et al. (2006) bahwa keberhasilan proses triploidisasi jarang mencapai 100 %, semua tergantung pada ketepatan suhu, lama kejutan, dan ketepatan waktu awal. Keberhasilan triploidisasi tergantung juga dari lama proses kejutan dan pembuahan yang dilakukan pada telur, kualitas telur dan jenis telur spesies ikan yang akan dilakukan triploidisasi. Menurut Piferrer et al. (2007) dalam Edriani et al. (2009) tidak semua ikan bisa dilakukan

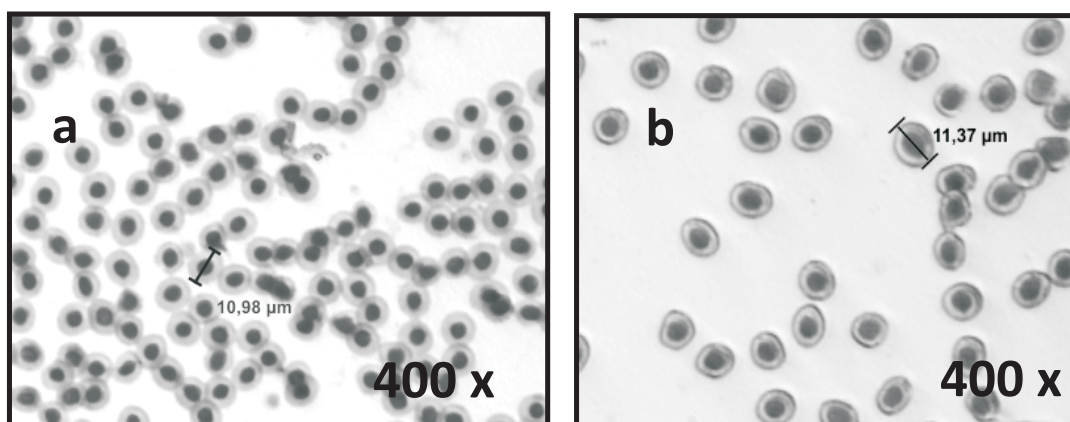
proses triploidisasi dengan teknik kejutan panas, hal ini dikarenakan setiap ikan memiliki ukuran telur yang berbeda-beda sehingga keefektifan perlakuan kejutan belum tentu berhasil.

Rendahnya ikan triploidisasi yang dihasilkan pada penelitian ini, ada kemungkinan disebabkan oleh pada saat diberikan kejutan, sebagian telur sudah mengeluarkan polar body II. Hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Lusindari et al. (1990) menunjukkan bahwa pada lele dumbo diperlukan waktu awal kejutan 1 dan 2 menit setelah fertilisasi pada suhu 40°C menghasilkan ikan triploid masing-masing sebesar 90,00% dan 96,67%, sedangkan waktu awal kejutan 3 menit cukup menurun yaitu sebesar 76,67%. Hal ini diduga pada waktu 4 dan 5 menit setelah pembuahan, polar body II sebagian telur telah keluar.

Perlakuan suhu kejutan 40°C selama 1 dan 2 menit memiliki induksi ploidisasi lebih tinggi daripada perlakuan lain yaitu 63,33%. Induksi ploidisasi dilakukan pada larva ikan lele sangkuriang yang berumur 90 hari dengan pengukuran sel darah merah dan penghitungan jumlah kromosom. Hal ini diasumsikan bahwa meningkatnya jumlah set kromosom akan menambah besar diameter sel darah merah, sehingga didapatkan perbedaan ukuran diameter sel darah merah ikan lele sangkuriang diploid dengan ikan lele sangkuriang triploid. Sunarsih (1990) dalam Setiadi (2000) mengatakan bahwa benih ikan triploid mempunyai ukuran rata-rata diameter sel darah merah 1,2 - 1,3 kali lebih besar dari pada diploid.

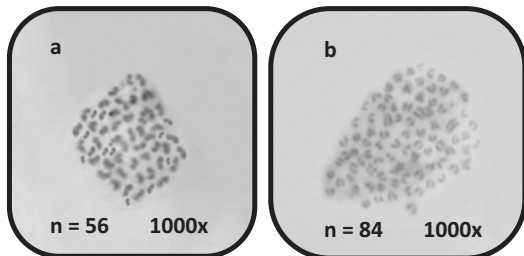
Hasil pengukuran sel darah merah didapatkan bahwa ikan lele sangkuriang diploid (kontrol) memiliki kisaran diameter sel darah merah antara 9,88 – 10,98 μm (Gambar 4a) sedangkan ikan triploid (perlakuan) memiliki diameter sel darah merah antara 11,07 – 12,72 μm (Gambar 4b). Hal ini sesuai dengan Setiadi (2000) yang menyatakan ikan nilem dengan kejut panas 40°C menghasilkan larva triploid dengan ukuran diameter sel darah merah lebih besar dibandingkan dengan larva diploid.

Gambar 4. Sampel sel darah merah diploid (a) dan triploid (b) ikan lele sangkuriang dengan pembesaran 400 kali.



Hasil perhitungan jumlah kromosom ikan diploid ($2n$) lele sangkuriang adalah 56 (Gambar 5a), hal ini sesuai dengan Hamsyah (2004) yang menyatakan kromosom lele diploid adalah 56, sedangkan pada penelitian ini jumlah kromosom pada ikan triploid ($3n$) lele sangkuriang adalah 84 (Gambar 5b).

Gambar 5. Sampel kromosom diploid (a) dan triploid (b) ikan lele sangkuriang dengan pembesaran 1000 kali.



Simpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan pada penelitian ini, maka dapat disimpulkan :

1. Suhu kejutan optimal yang dapat menghasilkan ikan lele sangkuriang triploid adalah 40°C selama 1 dan 2 menit.
2. Kisaran diameter sel darah merah ikan lele diploid antara 9,88–10,98 μm , sedangkan ikan lele triploid antara 11,07–12,72 μm . Jumlah kromosom ikan lele diploid adalah 56, sedangkan ikan lele triploid adalah 84.
3. Induksi ploidisasi tertinggi diperoleh dari suhu kejutan 40°C selama 1 dan 2 menit yang masing-masing sebesar 46,67% dan 63,33%.

Untuk menghasilkan ikan lele sangkuriang triploid sebaiknya digunakan suhu kejutan 40°C selama 1-2 menit dan awal kejutan sebaiknya dilakukan kurang dari 3 menit setelah pembuahan.

Daftar Pustaka

Alamanda, I. S., Handajani dan Budi Harjo. 2007. *Penggunaan Metode Hematologi dan Pengamatan Endoparasit Darah untuk Penetapan Kesehatan Ikan Lele Dumbo (Clarias gariepinus) di Kolam Budidaya Desa Mangkubumen Boyolali*. Biodiversitas Vol 8. Hal: 34-38.

Beaumont, A. R. 1994. *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*. Chapman and hall. London. P. 467-485.

Carman, O., T. Oshiro, dan F. Takashima. 1992. *Variation in The Maximum Number of Nucleoli in Diploid and Triploid Common Carp*. Nippon Suisan Gakkaishi, 58 (12) Formerly Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 2303-2309.

Don, J., and Avitalion, R. R., 1988. *Comparative Study on the Induction of Triploidy in Tilapia*, Using Cold-and Heat-Shock Techniques. J. Fish Biology. 32, 665-672.

Edriani, G., D. Silmina, W. Afrilasari. 2009. *Pengaruh Lama Kejutan Suhu Terhadap Keberhasilan Teknik Triploidisasi Pada Ikan Komet Carassius auratus auratus*. IPB, Bogor.

Effendi, M. I. 1997. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka nusantara, Yogyakarta.

Gold, J. R. 1979. *Cytogenetics*. In *Fish Physiology*, Volume VIII (Eds. W. S. Hoar, D. J. Randall dan J. R. Brett), pp. 353-405. Academic Press Inc., New York, USA.

Hamsyah, I. 2004. *Perbedaan Karakteristik Antara Ikan Lele Dumbo*

dan Lele Afrika (Clarias gariepinus Burchell). Skripsi. Fakultas Perikanan. IPB, Bogor.

Hariani, D. 2008. *Daya Tetas Ikan Mas (Cyprinus carpio) Hasil Triploidisasi Menggunakan Larutan Kolkhisin*. WAHANA. Vol: 51, No: 2. Hal: 72-80.

Hecht, T. and Appelbaum S. 1987. *Note on The Growth of Israeli Sharptooth Catfish During The Primary Nursing Phase*. Aquaculture, 63: 195-204

Lagler, K. E.; J.E. Bardach and R.R. Miller. 1977. *Ichthyology*. John Wiley and Sonc Inc. New York. 129-170 p.

Lusiandari, T, M. H. Suparta, S. Sastrawibawa dan I. Rustikawati. 1990. *Berbagai Waktu Awal Kejutan Panas Pada Triploidisasi Lele Dumbo*. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Padjadjaran, Bandung.

Mukti, A. T. 1999. *Buku Penuntun Praktikum Genetika Ikan*. Universitas Brawijaya, Malang.

Mukti, T, Sumitro dan Djati. 2001. *Poliploidisasi Ikan Mas (Cyprinus carpio L.)*. Biosain, 1 (1):111-123.

Mukti, A. T. 2005. *Perbedaan Keberhasilan Tingkat Poliploidisasi Ikan Mas (Cyprinus carpio Linn.) melalui kejutan panas*. Berk. Penel. Hayati: 10, 133-138.

Pudjirahaju, A., K. Bungas dan K. Yuliany. 2006. *Pengaruh Perbedaan Suhu Kejutan Panas terhadap Keberhasilan Gynogenesis pada Ikan Mas (Cyprinus carpio L.)*. Journal of Tropic Fisheries, 1(2):126-131.

Purdom, C. E. 1993. *Genetics and Fish Breeding*. Chapman dan hall, London Fish and Fisheries Series 8.

Richter, C. J. J. dan Rustidja (1985) *Pengantar Ilmu Reproduksi Ikan*. Nuffic/ Unibraw/Luw/Fish, Malang. 83 hal.

Rustidja. 1991. *Aplikasi Manipulasi Kromosom Pada Program Pembenihan Ikan*. Makalah dalam Kongres Ilmu Pengetahuan Nasional V, Jakarta. 23 hal.

Sastrawibawa, S. 1997. *Triploidisasi Ikan Tawes (Puntius gonlonotus Blkr.) Dengan Menggunakan Kejutan Panas*. Disertasi. Fakultas Pertanian. UNPAD, Bandung.

Setiadi, I. 2000. *Perkembangan Telur Ikan Nilem (Osteochilus hasselti. C.V.) Yang Dikejutpanaskan Sebagai Upaya Pengadaan Ikan Nilem Triploid*. Skripsi. Fakultas Biologi. Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto

Sukarti, K, I Djawad, dan Y. Fujaya. 2006. *Pengaruh Lama Kejutan Panas Terhadap Keberhasilan Triploidisasi Ikan Lele (Clarias batrachus)*. Sains & Teknologi. Vol. 6 No. 3: 135-142

Suryo. 1990. *Sitogenetika*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta. 442 hal

Suseno. 1983. *Suatu Perbandingan Antara Pemijahan Alami Dengan Pemijahan Stripping Ikan Mas (Cyprinus carpio.) Terhadap Derajat Fertilitas dan Penetasan Telurnya*. Tesis Magister Fakultas Pascasarjana Perikanan. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada

Tave, D. 1993. *Genetics for Fish Hatchery Managers*. Avi. Publ. Co. Inc., Wesport, Connecticut.

Thorgaard, G. H. 1983. *Chromosome Set Manipulation and Sex Kontrol in Fish*. In *fish physiology*, volume I, part B (Eds. W. S. Hoar, D. J. Randall dan E. M. Donaldson), pp. 405-434. Academic Press Inc, New York, USA.

Zonneveld, N., E. A. Huisman dan J. H. Boon. 1991. *Prinsip-prinsip Budidaya Ikan*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.